

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N°

258

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Eugène FRIEDRICH

Né le 21 février 1899, à Tileagd (Roumanie)

LA TENEUR DU SANG EN CALCIUM
CHEZ L'ENFANT A L'ÉTAT NORMAL
ET DANS LES FIÈVRES ÉRUPTIVES

Président : M. DESGREZ, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUE & C^{ie}, ÉDITEURS

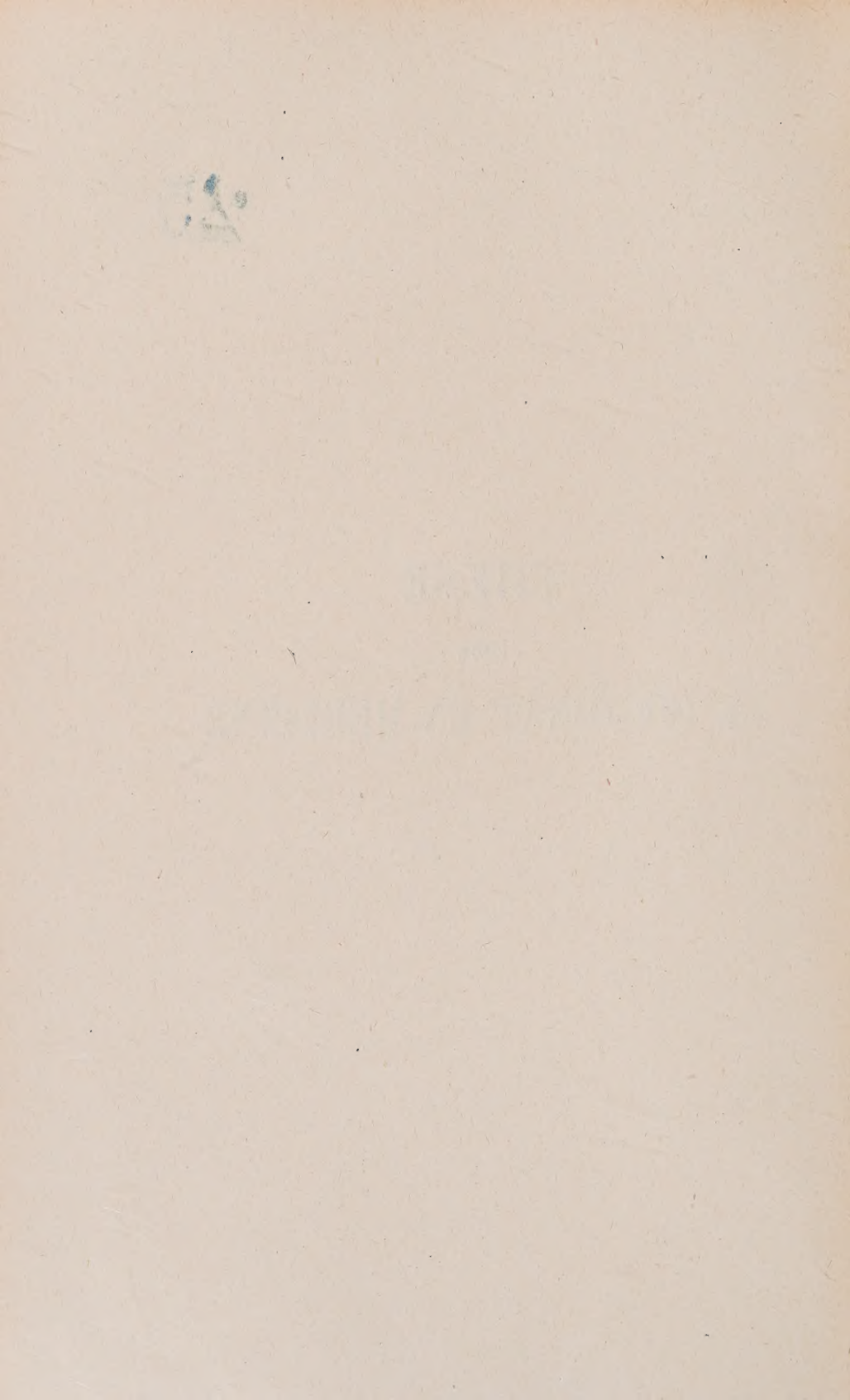
15, RUE RACINE, 15

1923



255

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE



FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Eugène FRIEDRICH

Né le 21 février 1899, à Tileagd (Roumanie)

LA TENEUR DU SANG EN CALCIUM

CHEZ L'ENFANT A L'ÉTAT NORMAL
ET DANS LES FIÈVRES ÉRUPTIVES

Président : M. DESGREZ, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

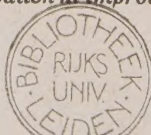
Anatomie	MM NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie	CH. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales	MARCEL LABBE
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	LECENE
Anatomie pathologique	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène	BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER
Clinique médicale	ACHARD
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux	PIERRE MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
Clinique chirurgicale	DELBET
	LEJARS
	HARTMANN
	GOSSET
Clinique ophtalmologique	DE LAPPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	LEGUEU
Clinique d'accouchements	BRINDEAU
	COUVELAIRE
	JEANNIN
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile	AUGUSTE BROCA
Clinique thérapeutique	VAQUEZ
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie	SEBILEAU
Clinique thérapeutique chirurgicale	PIERRE DUVAL
Clinique propédeutique	SERGENT

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI	DUVOIR	LE LORIER	RETTERRER
ALGLAVE	FIESSINGER	LEMIERRE	RIBIERRE
BASSET	GARNIER	LEQUEUX	ROUSSY
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEREBoullet	ROUVIERE
BLANCHETIERE	GREGOIRE	LERI	SCHWARTZ(A.)
BRANCA	GUENIOT	LEVY-SOLAL	STROHL
CAMUS	GUILLAIN	MATHIEU	TANON
CHAMPY	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHEVASSU	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CHIRAY	LABBE HENRI	MULON	VILLARET
CLERC	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DEBRE	LANGLOIS	PHILIBERT	
DESMAREST	LARDENNOIS	RATHERY	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



A Monsieur le Professeur DESGREZ

Professeur de Chimie médicale à la Faculté
de Médecine de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'honneur

*Qui nous a fait l'honneur
de bien vouloir accepter la
présidence de notre thèse.*

A Monsieur le Docteur LESNÉ
Médecin des Hôpitaux de Paris

*En témoignage de notre
profonde gratitude.*

A Monsieur J. CAILLAUD

Pharmacien de 1^{re} classe



Digitized by the Internet Archive
in 2026

LA TENEUR DU SANG EN CALCIUM

CHEZ L'ENFANT A L'ÉTAT NORMAL

ET DANS LES FIÈVRES ÉRUPTIVES

Parmi les nombreux éléments constitutifs de l'organisme humain, il y en a un dont le métabolisme est particulièrement intéressant à étudier vu les rôles physiologiques et pathologiques importants joués par lui ; cet élément : c'est le calcium. Il ne rentre pas dans le sujet de notre étude de nous occuper de ce double rôle physiologique et pathologique. Chacun le sait, les travaux de ces vingt dernières années l'ont suffisamment démontré. Rôle mécanique dans la construction des tissus osseux, en particulier, rôle biologique, — il est un élément excitateur dans la contraction musculaire, — régi probablement par les corps parathyroïdiens, et qui a été mis en lumière par les travaux de J. Loeb, Ferrier, etc.

Mais c'est surtout son rôle pathologique qui a occupé les auteurs d'une façon toute particulière. Et cela surtout pour la période de l'enfance où le calcium joue un rôle dominant dans la pathologie. Il faudrait citer ici une grande littérature pour pouvoir exposer toute l'étendue des travaux innombrables

poursuivis jusqu'ici sur ce terrain par les théoriciens et les pédiâtres. Il suffit de faire allusion à son rôle dans la production et dans l'évolution du rachitisme infantile, où disons-le immédiatement, sa quantité dans le sang paraît être diminuée d'après les travaux de Birk, Orgler, Escherich, Jhiemich, etc. pour rappeler l'importance de cet élément alcalino-terreux.

Dans la tuberculose la décalcification de l'organisme est un des phénomènes le mieux connu dans le métabolisme chimique de cette maladie, dans l'ostéomalacie ce processus de décalcification peut atteindre des proportions énormes.

Un autre champs de recherches - où le métabolisme du calcium est à l'ordre de jour — est la spasmiophilie, cette diathèse essentiellement infantile, dont toutes les manifestations latentes ou extériorisées, que ce soit des convulsions infantiles ou un laryngospasme, une bronchotétanie ou la téτανie classique elle-même sont toutes accompagnées d'une diminution dans la teneur en calcium du sang de l'enfant sujet à cette diathèse.

L'unanimité sur ce point paraît être complète, tel est au moins l'avis de la grande majorité des auteurs, qui se sont occupés de cette question. Citons à ce propos les travaux de Aschenheim, Cybulsky, Howland, Marriott, Katzenellenbogen, etc., qui ont tous prouvé l'exactitude de la notion mentionnée ci-dessus.

En présence d'un sujet aussi vaste et débattu, qu'est le métabolisme du calcium dans l'enfance et

en particulier dans la pathologie infantile, voilà la question que nous nous sommes posée : quel est le sort qui est réservé à cet élément, à son métabolisme dans les fièvres éruptives qui sont pour ainsi dire les maladies caractéristiques de l'enfance ?

Répondre à cette question ce sera l'occasion d'abord de nous occuper des analyses de calcium dans le sang des enfants en général, puis déterminer l'état où se trouve l'enfant au point de vue de son métabolisme calcique au cours et probablement après la sortie de ces maladies, état dont les répercussions immédiates et lointaines peuvent être importantes.

Répercussions immédiates et lointaines disons-nous et cela est impossible à méconnaître si l'on songe aux faits suivants :

Les pédiâtres savent depuis longtemps qu'au cours des maladies infectieuses en général et particulièrement au cours des fièvres éruptives dont il est ici question des accidents en rapport avec la spasmophilie peuvent éclater chez l'enfant.

Tel enfant fiévreux fait des crises de laryngospasme avec tous les dangers qu'elles entraînent, tel autre devient sujet à des convulsions, même si son âge est déjà avancé pour que l'on ne puisse pas incriminer l'insuffisance de développement de ces faisceaux pyramidaux. Sans compter les nombreux cas de mort survenue au cours de crises de bronchotétanie où l'existence de phénomènes inflammatoires au niveau des poumons est des plus douteuses.

Comment des faits cliniques comparables observés

en pathologie infantile en dehors des fièvres éruptives où on a pu incriminer un trouble du métabolisme du calcium n'auraient-ils pas pu nous amener à étudier le métabolisme du calcium au cours de ces fièvres éruptives, maladies susceptibles d'engendrer des accidents de spasmophilie?

Et avant même d'aller plus loin nous allons citer brièvement une observation qui nous a été donné de faire dans le service de M. Lesné à l'hôpital Trousseau et qui peut-être considérée comme un exemple classique du rapport évident entre les fièvres éruptives et les accidents de spasmophilie.

Il s'agissait d'une fillette âgée de 6 ans $1\frac{1}{2}$ (Odette (J...)) qui était amenée à l'hôpital au mois de février à cause de convulsions épitéptiformes qu'elle avait présentées depuis des années d'une façon intermittente.

Dans les premiers jours de l'hospitalisation apparaît une rougeole et l'enfant est transportée dans le service des rougeoleux et là après quelques jours de préparation une tétanie éclate chez elle avec tous ses signes classiques.

Puis, le 14 mars après avoir fini sa rougeole l'enfant contracte une varicelle et cette fois-ci sa tétanie devient extrêmement prononcée. Elle a plusieurs crises douloureuses dans la journée, elle est incapable de marcher et tous les signes : main des accoucheurs (Trousseau), carpopedalspasme, les signes de Weiss, Chvostek, signe du péronée deviennent très marqués.

En présence d'un cas tellement typique M. Lesué décide de faire faire un film cinématographique du cas.

L'examen de calcium du sang est pratiqué par nous.

Résultat : un abaissement énorme du taux du calcium par rapport à la normale : 6,6 mgr. par 100 centimètres cubes.

Comment ne pas penser à une intervention des deux fièvres éruptives consécutives dans l'abaissement du taux du calcium et partant dans le déclenchement de la tétanie chez cette enfant, alors, que la tétanie elle seule ne provoque pour ainsi dire jamais un tel abaissement du taux ? A ce point de vue les travaux de Mc Collum Neürath, Cattaneo, Katzenellenbogen, Stheeman etc., sont tout à fait démonstratifs.

Une autre observation de même genre, celle-ci américaine due à J. Howland et W. Marriott (*Journal of Medical Association*, 1917, p. 1939) rapporte un cas analogue.

Dans un service de rougeole la tétanie éclate chez un enfant. L'examen du sang pratiqué, on trouve que le taux du calcium est extrêmement abaissé. 6 milligrammes par 100 centimètres cubes de sang.

Dans la scarlatine également ou les convulsions ne sont point rares, ne devrait-on pas mettre sur le compte du métabolisme calcique une partie des responsabilités dans l'apparition de cet accident ?

Enfin, pour finir avec ces préliminaires nous sou-

lignons l'effet funeste exercé par la rougeole sur la marche et l'évolution de la tuberculose et nous remarquons que l'action décalcificatrice — de la rougeole car comme nous le verrons il s'agit ici d'une décalcification considérable — ne peut nullement être indifférente dans l'aggravation de la tuberculose.

Et maintenant avant d'entrer dans l'exposé même de nos résultats il est à sa place de nous occuper dans ce chapitre des différentes méthodes d'examen du calcium dans le sang.

Nous faisons cela pour deux raisons. D'abord, pour insister sur les difficultés techniques, sur la complexité que comportent ces examens, puis pour indiquer les causes d'erreur et partant le caractère approximatif des chiffres qui peuvent être obtenus au cours de ces analyses.

Quelles sont donc les différentes méthodes dont nous disposons aujourd'hui pour mesurer la teneur en calcium du sang ?

Elles peuvent être divisées en deux groupes :

1° Méthodes biochimiques ;

2° Méthodes chimiques proprement dites.

Occupons-nous d'abord des premières en énumérant les principales.

Une remarque s'impose ici en ce qui concerne leur découverte : ce sont les difficultés techniques des méthodes chimiques qui les ont fait naître ; mais malgré leur simplicité relative elles n'ont pas su s'imposer à la pratique du laboratoire vu les résultats

incertains qu'elles permettent d'obtenir, puis nombre d'entre elles ne sont aptes qu'à des analyses comparatives.

Une première méthode de ce genre est due à Blair-Bell (*The British Medical Journal*, 1907) qui opère de la façon suivante : à une goutte de sang mise dans une cuvette de Zeiss-Thomas il ajoute de l'acide oxalique. Des cristaux d'oxalate de calcium se forment alors dont le nombre sert à calculer la quantité de calcium existant dans ces cristaux. Tel est le principe de la méthode, qui comme on le voit est d'une simplicité attrayante.

Malgré cela c'est une méthode qui est loin de donner des résultats exacts. Et voilà pourquoi ? Les cristaux d'oxalate de calcium formés dans la cuvette sont très souvent de grandeur différente — fait, qui doit naturellement fausser les résultats. Puis, comme Lamers l'a bien démontré (*Zeitschrift für Geb. und Gynec.*, Bd. 71, 1912) la précipitation du calcium n'est pas complète ; autre objection, qui rend cette méthode peu utilisable.

Une autre méthode biochimique préconisée par Wright (Wright, Knapp, *Lancet*, 6 déc. 1902 ; Wright et Paramore, *Lancet*, 19 oct. 1905) était utilisée par un grand nombre d'auteurs. Voici en quoi elle consiste : Suspendre la faculté de coagulation du sang à l'aide des solutions d'oxalate d'ammonium à concentration croissante, puis en tenant compte de la concentration nécessaire à empêcher la coagulation du sang d'une part, des équivalences

moléculaires d'autre part, on arrive à calculer la teneur en calcium du sang analysé.

La mensuration se fait dans des tubes capillaires, dans lesquels on laisse monter le sang examiné, puis la solution d'oxalate d'ammonium, en quantité égale, en augmentant la concentration de cette dernière jusqu'à ce que la coagulation se produise. Christea, Denk, Neurath, Katzenellenbogen ont essayé cette méthode et d'après Jansen elle est loin d'être précise. La cause en est dans les grandes différences de concentration des solutions d'oxalate d'ammonium, dans la complexité du phénomène de la coagulation en général etc.

Ce qui est sûr, c'est que l'auteur lui-même et ceux qui ont essayé la méthode ont vu parfois des oscillations de 50 o/o chez le même individu.

Et cela comporte déjà le jugement, qu'on peut avoir sur cette méthode (Jansen, Hoppé-Seylers *Zeitschrift für physiologische chemie*, 1917-1918 ; t. Cl, p. 176).

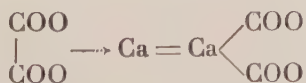
Ce que Voorhoeve a préconisé (*Biochemische Zeitschrift*, t. XXX, 1911) n'est au fond que la modification de la méthode de Wright. Voilà comment il procède : il prend une seringue de 5 cmc. 3 dont il remplit la moitié avec du sang pris par ponction veineuse, l'autre moitié reçoit une solution d'oxalate d'ammonium. Il y ajoute ensuite du chlorure de calcium à concentration croissante jusqu'à ce que la coagulation se produise. C'est la quantité de chlorure de calcium, qui lui sert pour calculer le

nombre de milligrammes de calcium, contenu dans le sang examiné.

Malgré l'ingéniosité de ces méthodes biochimiques, on est obligé de dire, qu'elles n'ont pas pu atteindre la valeur des méthodes chimiques proprement dites et que ce sont ces dernières qui sont les plus utiles à l'heure actuelle. En effet, ce sont elles qui restent les plus précises et c'est à leur perfectionnement que pensent les auteurs qui s'occupent de la question

Quels sont les principes chimiques qui dirigent ces différentes méthodes chimiques et quelles sont leurs représentantes les plus importantes, telles sont les questions qui se posent à leur égard. Questions auxquelles nous essayons de donner une réponse dans les lignes suivantes.

Le premier principe chimique qu'il convient de mentionner et qui est commun à tous les procédés est classique : il consiste dans la précipitation du calcium à l'état d'oxalate. C'est toujours l'ion-oxalate dont on se sert en somme, pour arriver au précipité blanc, insoluble dans l'eau qui est l'oxalate de calcium.



Mais pour arriver à ce précipité on ne peut pas opérer, bien entendu, directement sur le sang. Il est nécessaire d'éloigner ou de détruire toutes les matières organiques, qui rendraient impossible la précipitation convenable du calcium.

La réalisation de ce point, les auteurs l'obtiennent :

1° Ou bien par l'incinération du sang (sérum, plasma, sang total (selon le milieu que l'on a choisi pour l'analyse) ou en faisant digérer ce milieu par une substance appropriée. Que ce soit l'incinération ou la digestion des matières organiques on finit toujours par dissoudre le produit en HCl ;

2° Kramer, Tisdall, Bill font précipiter directement le calcium en présence même des protéines, c'est-à-dire sans préparation préalable du sang. Cette méthode, qu'on pourrait appeler « directe », nous la mentionnons seulement ;

3° Enfin une troisième méthode pour arriver à la phase de précipitation consiste dans la précipitation préalable des protéines du sang à l'aide des différents acides (acide trichlovacétique, acide picrique, etc.) puis on se sert du filtrat de la solution ainsi préparée. La méthode de Mazzocco, que nous avons choisie pour nos analyses, appartient à ce troisième groupe.

Le sang une fois ainsi préparé on continue par la précipitation du calcium, but essentiel de l'analyse. Travail extrêmement délicat malgré toutes les précautions prises (filtration, élimination du F , Mg , phosphates, etc...) car des impuretés peuvent toujours se mêler au précipité d'oxalate de calcium. Et c'est cette phase de l'analyse qui constitue la principale cause d'erreur des résultats, auxquels on arrive ultérieurement par le dosage proprement dit du cal-

cium. Ce dosage du calcium on peut l'entreprendre de plusieurs façons ; ces façons, nous allons les énumérer, en commençant :

1° Par la méthode gravimétrique, où l'on pèse directement la quantité de calcium après avoir transformé l'oxalate en oxyde ou sulfate de calcium, qui eux, soumis à une calcination nous permettent la pesée directe de l'élément recherché. En principe, c'est cette manière de dosage qui devrait fournir les résultats les plus précis mais ici, il y a malheureusement un grand inconvénient, qui est facile à deviner. Pensons seulement à la quantité minime de calcium contenue dans quelques centimètres cubes de sang, et on s'apercevra tout de suite des difficultés d'obtenir intégralement cette quantité (au cours de la calcination par exemple, des particules peuvent en sauter hors du creuset);

2° Le dosage colorimétrique dont une variété porte le nom dosage néphélométrique (Lyman), est une méthode indirecte ;

3° La méthode iodométrique, que Jansen a préconisé le premier pour les analyses du calcium dans le sang, est la suivante. Ici on dissout le Ca O dans un excès d'acide chlorhydrique puis on détermine la quantité de cet excès (chiffre qui sert au calcul du Ca) à l'aide de la quantité de iode libérée ;



4° Dans le dosage volumétrique on arrive à déterminer la quantité du calcium de la façon suivante : l'oxalate de calcium est oxydé par une solution titrée

de permanganate de potasse. Du *volume* de permanganate nécessaire à l'oxydation complète, en tenant compte des poids moléculaires, on peut calculer la quantité de calcium *caché* dans les molécules d'oxalate de calcium. C'est cette manière de dosage qui est le plus souvent utilisée pour les analyses qui nous occupent. Elle a pour elle le grand avantage d'être indirecte, on ne touche pas quasi au précipité, mais elle demande un entraînement assez long pour que l'on puisse opérer avec sûreté. Il s'agit de savoir exactement où on doit s'arrêter, quel est le moment exact quand se produit le virage du permanganate. Et on conviendra sur la justesse de cette remarque si l'on sait, que quelques gouttes de plus ou moins de permanganate suffisent à troubler le résultat, y ajouter ou d'y soustraire quelques dixièmes de milligrammes.

Quant à nous, c'est à cette méthode de calcul que nous avons eu recours dans nos analyses parceque c'est-elle qui a pu nous fournir le plus de garanties dans les conditions où nous nous sommes trouvées.

Ayant fini avec l'exposé des idées directrices des différentes méthodes chimiques nous allons rappeler en détail quelques-unes de ces méthodes, les principales au moins. Restreindre le nombre des méthodes citées cela nous paraît d'autant plus légitime qu'elles peuvent être ramenées toutes à celles citées par nous.

Parmi les nombreuses méthodes gravimétriques

préconisées par Aron (*Biochemische Zeitschrift*, 1907, t. IV, 268), Allers et Bondi (*Biochemische Zeitschrift*, 1907, t. VI, 336), par Pribram (*Ber. Sæchs. Ges. Wiss.*, 1871, 23, p. 279), par Crudden (*The Journal of biological chemistry*, 1505, 10, t. VII, p. 83), etc., nous ne donnons que ce dernier, qui peut-être considéré comme le résumé de toutes les autres et qui est applicable toutes les fois qu'il s'agit d'un milieu où du fer, du Mg et des phosphates sont présents en dehors du calcium. En voilà les détails :

A la solution qui contient du Mg, de calcium et des phosphates on ajoute : 1° deux gouttes de la solution d'alizarine diluée ; 2° de l'ammoniaque goutte à goutte jusqu'à ce qu'elle devienne alcaline ; 3° de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à une réaction acide ; 4° quelques gouttes de HCl encore pour assurer la dissolution complète du phosphate de Ca. On chauffe puis on laisse refroidir la solution ainsi préparée ; 5° nouvelle neutralisation.

A cette solution juste acide à l'alizarine on ajoute 10 centimètres cubes de HCl $n/2$; puis la même quantité d'acide oxalique (2,5 o/o).

Ebullition, suivie d'un chauffage continu jusqu'à la précipitation complète de l'oxalate.

A cette solution encore en ébullition on ajoute de l'oxalate d'ammoniaque (3 o/o), quelques gouttes et à plusieurs reprises, en ayant soin d'attendre la cristallisation du précipité. La quantité de l'oxalate d'ammoniaque, employée au cours de cette phase de l'opération est en général la double de celle qui cor-

respond à la quantité de calcium contenue. Arrivé à ce point on met la solution à un endroit frais pendant quatre à dix-huit jours.

On reprend alors l'analyse en filtrant puis en lavant la solution avec de l'oxalate d'ammoniaque froid pour éliminer les chlorides qu'elle contient.

Suit l'incinération du précipité jusqu'à un poids constant, faite dans un creuset en platine. On ajoute après 20 centimètres cubes de HNO_3 concentré, on filtre, puis on laisse évaporer au sec. Arrivé presque à la fin de l'évaporation quand des vapeurs de HNO_3 n'en sortent qu'à peine, on ajoute 10 centimètres cubes de l'acide chlorhydrique concentré. Nouvelle évaporation, puis dilution jusqu'à 80 centimètres cubes. Neutralisation légère puis on laisse le tout refroidir.

En cas d'absence de fer on ajoute du phosphate acide de sodium (2 o/o) en quantité suffisante pour précipiter le magnésium. Puis on verse encore de cette solution jusqu'à un léger excès. On ajoute encore de l'ammoniaque pendant qu'on agite la solution jusqu'à un excès notable de l'alcaline.

Le lendemain, on lave la solution avec de l'ammoniaque alcoolisé (1 alc. 1 amm. dil. 3 eau) pour éliminer les chlorides. Le précipité est ensuite brûlé (avec le papier-filtre) en présence d'une aération suffisante pour en éviter la réduction.

En cas de présence de fer on ajoute 0 cmc. 5 à 1 centimètre cube de citrate de sodium (50/o) avant la précipitation du magnésium. Puis on précipite le magnésium comme en cas d'absence de fer. Ici, il n'est pas

indispensable de laver le précipité, il est tout de même nécessaire de le décanner deux ou trois fois. On dissoud après ce qui est adhérent au flacon et au filtre à l'aide d'acide chlorhydrique dilué.

On complète jusqu'à 80 centimètres cubes, puis nouvelle précipitation du fer par 0 cmc. 5 de citrate de soude (5 o/o). Filtration, lavage du précipité suivis de calcination. Pesée. En conclusion : c'est sous la forme d'oxalate de Ca. que l'on précipite le calcium et cela se fait en milieu acide, circonstance qui permet l'opération malgré la présence des substances qui pourraient gêner. Ces substances sont : le fer, le Mg, l'acide phosphorique.

Quant à la valeur de cette méthode, tous les auteurs s'accordent, que pour le dosage des petites quantités de calcium qui existent dans le sang cette méthode ne donne pas des résultats satisfaisants. Tel est aussi l'avis de Hirth qui l'a essayée (*Comptes rendus de la Soc. de Biolog.*, 1923, t. LXXXVIII, n° 6). Et puis, comme on l'a bien vu, elle demande beaucoup de temps pour être exécutée.

Une deuxième principale méthode préconisée par Richards, Mac Caffrey, Harold, Bisbee (*Zeitschrift für Anorganische Chemie*, 1501, t. XXVIII, p. 71) est la suivante :

On commence par éliminer le fer et l'acide phosphorique dont la présence peut avoir une action nuisible au cours du dosage. Le calcium est précipité sous forme d'oxalate de calcium en milieu neutre,

le magnésium reste dissous à l'état complexe en présence d'un excès d'oxalate d'ammonium et de chlorure d'ammonium. Après cinq heures on recueille le précipité d'oxalate de calcium sur un filtre quantitatif qui ne doit pas abandonner après calcination de résidu basique. Après calcination de l'oxalate de calcium, la chaux est dosée par acidimétrie (citée par Hirth, Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1923, t. LXXXVIII, n° 6).

Parmi les méthodes colorimétriques, c'est celle due à Lyman (*Journal of Biological Chemistry*, t. XXIX, p. 169) qui a été utilisée très souvent par les auteurs américains surtout. Voici ses détails. On ajoute dans un petit flacon à 5 centimètres cubes de sang 15 centimètres cubes d'acide trichloracétique. La solution est filtrée à travers un filtre sans calcium, 10 centimètres cubes du filtrat seront transvasés dans un flacon d'Erlenmayer (capacité 50 cmc.). On y ajoute : 1° une goutte de méthyl-orange (1/1000); 2° de l'ammoniaque (2/N) goutte à goutte jusqu'à une coloration jaune; 3° de l'acide azolique (N0,05) goutte à goutte jusqu'à une coloration rose. Puis encore 1 centimètre cube d'acide azotique; 4° 1 centimètre cube d'acide oxalyque (40/0); 5° 1 centimètre cube d'acétate de sodium (20 0/0) goutte à goutte. Agiter et laisser à la température de la chambre pendant la nuit. Le lendemain, on lave le bouchon du flacon avec quelques gouttes d'oxalate d'ammonium (0,5 0/0). Centrifugation, décantation. On lave le flacon avec 5 centimètres cubes d'oxalate d'ammo-

nium et ce liquide de lavage sera ajouté au contenu du tube centrifugeur.

On dissout le précipité en 5 centimètres cubes d'acide azotique 0.1 N en agitant le tube pour dissoudre tout ce qui adhère aux parois. Puis on transvase le liquide dans un flacon y ajoutant l'eau de lavage du tube.

On pipette alors 20 centimètres cubes d'oxalate de calcium de la solution standard (voir la préparation dans l'article de Lyman) dans un flacon de 1000 centimètres cubes. Dans deux verres, on met du stéarate d'ammonium, 50 centimètres cubes dans l'un, 25 centimètres cubes dans l'autre. La solution standard sera mise dans le verre qui contient 50 centimètres cubes du stéarate d'ammonium. Dans l'autre verre on met le liquide à analyser.

Puis on remplit les deux tubes de néphelometer.

Le tube gauche recevra la solution standard jusqu'à 32 millimètres, le tube droit en recevra tant que sa couleur soit égale à la première. On remplace ensuite le tube gauche avec la solution à analyser et on déchiffre d'après les règles de l'appareil. Le calcul : Le chiffre lu, divisé par 4 donnera le nombre des milligrammes de Ca (et non de Ca O_2) contenus en 100 centimètres cubes du sang analysé.

Comme on le voit ils'agit d'une méthode qu'on ne peut pas qualifier très simple, tellement les opérations qu'elle comporte sont nombreuses. La préparation des réactifs nécessaires à cette analyse est déjà un travail très complexe ; surtout de la solu-

tion standard d'oxalate de calcium et de l'ammonium stéarate.

Du reste, l'auteur lui-même reconnaît que malgré cette complexité, la méthode n'est pas tout à fait précise.

La méthode de Howland et Marriott (*Journal of Biological Chemistry*, 1917, t. XXVII, p. 233) est également une méthode colorimétrique. Nous ne la reproduisons pas, car elle n'offre aucune donnée nouvelle.

Quant aux méthodes volumétriques, avant de faire connaître celle qui nous a servie pour nos analyses, nous en reproduisons une autre beaucoup plus compliquée. C'est B. Kramer et I. Howland (*Journal of Biological Chemistry*, 1920, t. 43, p. 35) qui en sont les auteurs.

« 1 ou 2 centimètres cubes de sérum mis dans un creuset en platine sont évaporés ; la déhydratation est complétée à 110° C. On place le creuset dans un disque en quartz, qu'on met sur un tube de Meker ou Fisher. Chauffage lent d'abord, puis vigoureux. Le disque couvert d'un couvercle en quartz, on continue le chauffage jusqu'à l'incinération complète. Le creuset est alors enlevé et on dissout les cendres dans une faible quantité de l'ONHCl. Nouvelle évaporation et incinération. Une matière cristalline est alors obtenue qui est soluble dans un centimètre cube de 0,1 N.H₂SO₄.

Cette solution on la transvase dans un tube Pyrex (100 mm. de longueur sur 10 mm. de largeur ;

1 cmc. 2 de calibre). Chauffage au bain-marie pendant quelques minutes, puis on ajoute une goutte de 0,01 N, permanganate de potasse pour s'assurer de l'absence des matières oxydables ; pour cela la coloration rose doit se maintenir au moins une minute. On ajoute après une goutte de phénolsulphonaphtaléine (0,01 0/0) puis une goutte de l'ammoniaque concentré. Chauffage du tube pour faire évaporer l'excès d'ammoniaque. A ce moment là, il se forme un précipité fin. Le tube est encore chaud quand on ajoute 0 cmc. 3 d'acide oxalique (0,1 N) dissous dans de l'acide sulfurique 0,5 N.

Le précipité de toute à l'heure est maintenant remplacé par un précipité cristallin, abondant. A ce moment là, la réaction du liquide est acide. On continue le chauffage pendant quelques minutes puis on laisse refroidir le tube et on y ajoute 0 cmc. 1 d'acétate de sodium (sol. saturée). On complète le volume à 2 centimètres cubes. Le lendemain on filtre, 1 centimètre cube du filtrat est mesuré dans un verre où on ajoute encore 1 centimètre cube d'acide sulfurique (20 0/0). Chauffage du verre au bain-marie pendant quelques minutes, puis on titre jusqu'à une coloration rose, qui doit subsister au moins pendant trente secondes.

Pour faire du travail précis, le point final de la titration sera déterminé de la façon suivante : On prend de l'eau, en quantité égale à la solution à titrer et on y laisse tomber du permanganate de K jusqu'à la même coloration rose qui a été obtenue

au cours de la titration. Cette quantité de permanganate sera déduite de celle utilisée à la titration. Cette quantité à déduire est en générale 0 cmc. 04 (0,01 N). Calcul : Le double de la quantité de permanganate utilisée au cours de la titration sera déduit de la quantité de permanganate de K nécessaire à l'oxydation de 0 cmc. 3 d'acide oxalique (0, 1 N). Le chiffre ainsi obtenu sera encore diminué de la quantité de permanganate de K qui a servi à corriger la titration (0 cmc. 04 en général). Le résultat est multiplié par 0,2 (étant donné que 1 cmc. de 0,01 N permanganate de K est équivalent à 0,64 oxalate de calcium ou bien à 0 mm.2 de calcium).

Cette méthode volumétrique extrêmement compliquée rappelée nous renonçons à la description des autres. Mentionnons-les simplement : Méthode de Dienes (*Bioch. Zeitschrift*, 1919, 95, 131) la méthode de Waard D. J. (*Bioch. Zeitschrift*, 1919, 97, 186).

Nous en arrivons maintenant à donner la méthode qui a été élaborée par Mazzocco et qui nous a servie pour nos analyses.

Cette méthode, nous l'avons choisie à cause de sa simplicité relative par rapport à celles que nous venons d'énumérer dans cette partie de notre thèse. De date toute récente, elle a été présentée à la Société de Biologie et publiée dans les Comptes rendus de la Société, année 1921, t. 35, p. 689).

Avant même de discuter la critique de cette

méthode nous en donnons la description en détail:

Au sérum (5 cmc. 1 cmc. au minimum) on ajoute volume égal de solution à 15 o/o d'acide trichloracétique ; on mélange et on filtre après dix minutes sur un filtre sans pli. Le précipité est séparé avec une baguette et on le délaie, dans le même récipient, dans 10 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 50/o. On filtre sur le même filtre, on lave et on réunit tous les filtrats.

Le calcium est précipité en milieu légèrement alcalinisé par l'ammoniac (2 cmc. d'oxalate d'ammonium à 2,5 o/o) on fait bouillir dix minutes et on laisse reposer six heures. Liquide et précipité, seront transvasés dans un tube à centrifuger, puis on sépare le précipité, par centrifugation et décaustation.

Le précipité est lavé deux fois dans le même tube, par centrifugation au moyen d'une faible quantité d'eau. Il est alors dissous dans 4 centimètres cubes d'acide sulfurique à 5 o/o chauffé à 60 degrés puis on titre au moyen d'une solution de permanganate de potassium.

Il est indispensable de préparer le permanganate de la façon suivante : la dose est de 0 gr. 25 par litre d'eau distillée et on chauffe lentement pendant trente-six heures dans un ballon à réfrigérant à reflux ; puis on filtre sur un creuset de Gooch, avec de l'amiante calciné. On complète à un litre.

La solution est stable deux mois. On la titre tous les trois jours avec l'acide oxalique à 1,101 o/o

dont 10 centimètres cubes correspondent à 25 centimètres cubes de la solution de permanganate de potassium.

Dans ce cas 1 centimètre cube de celle-ci correspond à 0,000 14 de calcium.

Quant aux mérites de ce procédé nous l'avons déjà dit le principal de ces mérites ; il est simple, relativement facile à exécuter à la condition que la préparation des réactifs nécessaires soit rigoureusement précise.

Parmi ces réactifs le permanganate de potasse est celui qui demande le plus de soins dans sa préparation et dans sa conservation. À ce point de vue, nous avons strictement suivi les prescriptions de l'auteur du procédé. Tous les trois jours nous avons titré notre solution de permanganate avec la solution d'acide oxalique qui, elle à son tour, était constamment soumise au contrôle d'une solution de soude (0,01 N).

Nos autres réactifs étaient également examinés tous au point de vue de leur pureté (l'acide sulfurique, l'acide trichloracétique, l'oxalate d'ammonium, l'eau distillée) pour nous mettre à l'abri des causes d'erreur pouvant provenir de l'impureté de ces réactifs.

Nos vases et verres, les flacons et baguette étaient choisis parmi ceux, qui n'abandonnent pas de calcium quand on se sert d'eux (marque Pyrex).

Quant aux défauts du procédé nous devons dire

qu'étant donné qu'il s'agit d'un procédé volumétrique la précision n'est pas, ne peut pas être poussée si loin que dans les dosages pondéraux. Mais ces derniers nous l'avons vu plus haut ne sont pas exacts non plus dans les analyses des petites quantités de sang.

En résumé : nous avons considéré notre procédé comme suffisamment précis, d'autant plus que nos résultats qui sont au moins des résultats comparatifs se trouvent en harmonie entre eux.

Arrivés au chapitre où nous exposons nos résultats obtenus nous indiquons d'abord la technique que nous avons suivie dans le prélèvement du sang. Etant donné que le milieu sur lequel nous avons opéré était le sérum exclusivement, il avait été superflu de prendre les précautions usuelles pour empêcher la coagulation du sang (tubes paraffinés, citrate de soude etc.).

Dans les cas, quand cela était possible, c'est par ponction veineuse que nous avons prélevé la quantité de sang nécessaire (veine médiane, veine jugulaire dans deux cas).

Dans les autres cas où la ponction veineuse était impossible à pratiquer, nous nous sommes contentés des ventouses scarifiées, après avoir pris les précautions nécessaires à empêcher la souillure du sang (Nettoyage des instruments à l'eau bi-distillée, nettoyage de la peau à l'éther, puis par de l'eau bi-distillée).

C'est dans les services de M. Lesné, à l'hôpital Trousseau que nous avons pu faire les prélèvements de sang nécessaires à nos analyses.

Nous profitons de l'occasion pour remercier le plus respectueusement M. Lesné qui a bien voulu nous permettre d'entreprendre et de poursuivre notre travail dans ses services.

Nous remercions également MM. Comar et Cie qui nous ont largement ouvert leur laboratoire de recherches où nous avons poursuivie l'étude de la partie chimique de notre thèse.

Nous y avons travaillé en collaboration avec M. Caillaud, docteur en pharmacie, chimiste des laboratoires Clin que nous tenons à remercier ici pour nous avoir guidé dans l'exécution de nos analyses.

La première série de nos analyses a été consacrée à l'étude de la teneur en calcium du sang chez les enfants normaux. En dehors de l'intérêt qu'il comporte, ce travail était nécessaire en même temps, vu qu'il aura dû nous servir ultérieurement comme une base de comparaison.

Ces enfants tous guéris de leurs maladies, ils se trouvaient à la fin de leurs convalescence, sur le point de sortir de l'hôpital ; et leur passé immédiat était tel, que nous nous crûmes autorisés à les considérer comme normaux au point de vue du sujet qui nous intéressait.

Dans le choix de ces enfants, nous avons eu soin bien entendu de ne prendre que des enfants exempts

de rachitisme, de spasmophilie, pour nous mettre à l'abri des causes d'erreur pouvant résulter de l'existence de ces maladies. Quant à la spasmophilie nous devons nous contenter de la recherche des signes physiques de cette diathèse, en dehors des commémoratifs ; quant à un examen électrologique, tout important qu'il soit, malheureusement nous n'avons pas pu le faire.

Le nombre des enfants de la série « normale » était dix. Leur âge variait entre 5 mois et 12 ans.

Le maximum de la quantité de sérum examiné chez eux, était 5 centimètres cubes ; le minimum 2 centimètres cubes.

Voilà leur liste avec les résultats obtenus :

Enfants normaux

N°	Noms	Age	Quantité de sérum examiné	Calcium en 100 cc. mgr.
1	Marcelle R...	5 mois	4 cmc.	12,97
2	Stella A.	2 ans	5 —	11,34
3	Raymond B...	2 —	5 —	12,10
4	Andrée G. ..	3 —	5 —	12,86
5	Jean M.	5 —	5 —	11,50
6	Blanche B...	6 —	5 —	13,45
7	Roger V....	10 —	5 —	11,21
8	Camille L...	12 —	4 —	16,12
9	Pierre G. ...	11 —	5 —	11,25
10	André J.....	9 —	2 —	10,74
Chiffre moyen.....				12,30

En même temps nous donnons le tableau suivant, dressé par Marthe R. Jones et Lillian L. Nye, deux

auteurs américains (*Journal of biolog. Chemistry*, 1921, t. XLVII, p. 321). C'est la méthode de Lyman qu'ils ont employée et voilà les chiffres, auxquels ils sont arrivés.

No	Age	Calcium par 100 cc.		
		Sang total	Globules	Plasma
		mgr.		
1	4 semaines	9	9,4	9,14
2	2 mois	—	—	11,0
3	7 —	9,9	14,0	8,4
4	3 ans	10,6	11,2	11,0
5	4 —	5,6	5,5	5,5
6	5 —	12,4	12,0	12,4
7	6 —	11,4	11,6	11,0
8	6 —	10,0	12,0	8,6
9	8 —	—	—	12,0
10	7 —	8,0	6,4	9,6
11	8 —	8,8	5,4	10,4
12	9 —	9,1	10,0	9,4
13	9 —	9,2	10,0	9,4
14	11 —	10,1	5,2	14,4
Chiffre moyen....		9,4	9,0	10,2

Comme on voit ces chiffres diffèrent sensiblement des nôtres, ces derniers étant plus élevés en général. Cette différence, nous l'enregistrons simplement, sans discuter les raisons possibles à expliquer cette différence. Répétons seulement, que les chiffres que nous avons obtenus sont des chiffres comparatifs, étant convaincus, que quelle que soit la méthode employée, on ne saurait leur demander davantage.

Du reste, ce qui est encore à remarquer, c'est le caractère assez uniforme des chiffres obtenus par

nous ; l'oscillation autour du chiffre moyen n'est que très petite.

Il aurait été intéressant à rechercher à propos de cette série en prenant des enfants de bas âge s'il n'y avait pas de différence entre eux c'est-à-dire entre leurs chiffres de calcium respectifs — selon qu'ils étaient nourris au sein ou au biberon. Chez ces derniers notamment, Finkelstein a trouvé une excitabilité électrique augmentée (40 o/o des enfants au biberon) ce qui constitue, comme on le sait un signe décisif de la diathèse spasmophile.

Quant à la série des enfants examinés au cours des fièvres éruptives que nous avons limitées à la rougeole, à la varicelle et à la scarlatine, le nombre des analyses faites par nous s'élève à quinze. Chiffre peu élevé il est vrai, mais qui trouvera peut-être une explication dans la longueur et minutie, qu'il faut apporter à ces analyses.

Dans la varicelle, les enfants examinés par nous, étaient au nombre de 5. Ils se trouvèrent tous en pleine période d'éruption, sans complication au moment du prélèvement du sang. Deux des enfants ont contracté la rougeole à la fin de leur varicelle. Par ce fait, ils nous ont offert une excellente occasion pour rechercher l'effet sur le métabolisme calcique de deux fièvres éruptives quand ces deux fièvres se superposent en quelque sorte.

L'analyse a nettement démontré ce qui était possible à prévoir d'après les résultats d'ensemble : le

taux du calcium trouvé dans leur sang était de beaucoup inférieur à celui, qui a été trouvé chez les varicelleux.

Les enfants rougeoleux examinés par nous se trouvaient eux aussi en période d'éruption, dans les premiers jours de cette période. Aucun d'eux n'a eu de complications pulmonaires (bronchopneumonie) auriculaires ou autres; exempts de rachitisme ou de spasmophilie nous avons pu les considérer comme des rougeoleux exclusivement.

Des recherches analogues ont déjà été faites en Amérique. Howland et Marriott ont trouvé une diminution du taux du calcium chez les enfants rougeoleux. Ils ont examiné 21 cas et sans exception, le chiffre en question qu'ils ont trouvé était inférieur à la normale. Le chiffre moyen était notamment : 9 mm. 4 pour 100 centimètres cubes de sérum. Le chiffre le plus bas était 7 mm. 9 pour 100 centimètres cubes (*Quart. Jour. Med.*, 1917-1918, t. XI, p. 289).

L. Meysenbùg et G.-F. Cann (*Journal of biol. Chemistry*, 1921, t. XLVII, p. 541) ont examiné 5 cas de rougeole. Les chiffres respectifs étaient 9 mm, 8 mm. 7, 8 mm. 5, 9 milligrammes, 7 mm. 6 pour 100 centimètres cubes de sérum. La réaction électrique de tous ces enfants était normale, sauf une très légère hypérexcitabilité trouvée chez deux d'eux.

Enfin nous avons examiné cinq cas de scarlatine.

Les enfants en question se trouvaient dans les

premiers jours de leur éruption sans complication qui aurait pu gêner notre but.

Le tableau suivant résume les chiffres obtenus :

N°	Noms	Age	Quantité de sérum examiné	Ca en 100 cc. de sérum
—	—	—	—	mgr.
1	Lucien R... varicelle + rougeole	2 ans	5 cme.	8,7
2	Léon R... varicelle + rougeole	3 —	4 —	9,1
3	Andrée A... varicelle	11 mois	3 —	10,97
4	Madeleine B . . vari- celle	9 ans	5 —	10,46
5	Madeleine H... vari- celle	8 —	5 —	10,8
6	Lucienne J... rougeole.	2 —	4 —	8,93
7	Blanche D... rougeole.	3 ans 1/2	4 —	9,45
8	Louis R... rougeole. .	5 —	3 —	8,75
9	Yvonne H... rougeole.	7 —	3 —	9,15
10	Roger C... rougeole...	9 —	4 —	10,41
11	Odette B... scarlatine.	5 —	5 —	9,87
12	Charles M... scarlatine.	3 —	5 —	10,41
13	Maurice K... scarla- tine.	7 —	5 —	11,23
14	Raoul G... scarlatine.	8 —	5 —	10,41
15	Claude D... scarlatine.	14 —	5 —	9,35

En résumé :

Chiffre moyen pour la varicelle : 10,74 pour 100 cme.

— rougeole : 9,33 pour 100 cme.

— scarlatine : 10,25 pour 100 cme.

Ces chiffres montrent par rapport à la normale (12,30).

Une diminution de 12,08 pour 100 environ pour la varicelle.

— 24,15 — rougeole.

— 16,65 — scarlatine.

CONCLUSION

En nous servant du procédé récent de Mazzocco pour examiner la teneur du sang en calcium chez les enfants normaux et au cours des fièvres éruptives les résultats comparatifs auxquels nous sommes arrivés nous montrent un chiffre moyen de 12 mgr. 30 de calcium pour 100 centimètres cubes de sérum chez des enfants normaux, exempts de toutes maladies, capables d'avoir une influence sur le métabolisme calcique (rachitisme et spasmophilie en particulier). C'est là un chiffre, qui est supérieur aux chiffres moyens trouvés par des auteurs américains à l'occasion des recherches analogues (10 mgr. en général pour 100 cmc. de sérum).

Par rapport à ce chiffre moyen considéré par nous comme normal, nous avons trouvé une diminution du taux du calcium du sang dans les fièvres éruptives ; et cela d'une façon générale.

En ce qui concerne la varicelle cette diminution a été trouvée 15 0/0 environ (10 mgr. 74 pour 100 cmc. de sérum). Dans la rougeole elle a atteint 25 0/0 environ (9 mgr. 33 pour 100 cmc. de sérum). Enfin dans la scarlatine elle était de 15 0/0 environ (10 mgr. 25 pour 100 cmc. de sérum).

On assiste donc à un trouble très bien marqué

du métabolisme calcique de l'organisme (du sang) au cours des fièvres éruptives qui sont les maladies quasi caractéristiques de l'enfance.

C'est à la clinique de démontrer par des observations si ce trouble du métabolisme calcique observé dans les fièvres éruptives ne pourrait être rendu responsable des accidents de spasmophilie qui peuvent éclater chez les enfants spasmophiles avec une spasmophilie jusqu'alors latente, en portant ce trouble à un degré suffisant au déclenchement de ces accidents.

Mais ce que nous trouvons surtout intéressant, c'est la décalcification énorme de l'organisme de l'enfant rougeoleux. Les rapports entre cette fièvre éruptive et la tuberculose n'étant que trop évidents nous croyons pouvoir y voir une des causes de l'aggravation d'une tuberculose déjà préexistante, ou de la préparation de l'organisme à une résistance plus faible envers cette maladie.

Et comme conclusion d'ordre clinique et thérapeutique nous nous demandons pourquoi ne pas essayer à donner du calcium aux enfants spasmophiles ou tuberculeux au cours des fièvres éruptives en général mais au cours de la rougeole plus particulièrement ?

Vu : le Président de la thèse,
DESGREZ

Vu, le Doyen,
ROGER

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris
P. APPELL

BIBLIOGRAPHIE

- Aschenheim.* — Ergebnisse der Inneren Medizin, vol. XVII.
- Aron et Seebauer.* — Biochem. Zeitsch., 1908, 8.
- Cybulsky.* — Monatschrift für Kinderheilk. 1906, 5.
- Netter.* — Rev. mens. des malad. de l'enf., 25.
- Blair Bell.* — The British Med. Journal, avril, 1907.
- Lamers.* — Zeitschrift für Geb. und. Gynec. Bd. 71, 1912.
- Wright, Knapp.* — Lancet, 6 déc. 1902.
- Paramore, Lancet, 140 et., 1905.
- Neurath.* — Zeitschrift für Kinderh., t. I, 1910.
- Katzenellenbogen.* — Zeitschrift für Kinderh., 1913, t. IX, Bd. 8.
- Voorhoeve.* — Biochem. Zeitsch., 1911, t. XXX; Deutsche Archiv. für Klin. medicin.
- Teissier, Morel, Thévenot.* — Recherches sur la teneur en Ca du sang humain (Lyon médical, 1908, p. 171).
- Hugounenq.* — Journ. de Phys. et Path., t. I, t. II.
- Dhéri.* — Comptes rendus de la Soc. de Biol., juin 1906, 60.
- Crudden.* — The Journal of Biol. Chemistry, t. VII, p. 83.
- Richards.* — Zeitschrift für Anorg. Chemie, t. XXVIII, p. 71.
- Jansen, Hoppé Seylers.* — Zeitschrift für phys. chem., 1918, 101, p. 176.
- Fischbein.* — Therap. Monatshefte, 1910, p. 243.
- Bogen.* — Monatsch. f. Kinderheilk, 1907, 5, p. 228.
- Aron.* — Bioch. Zeitsch., 1907, IV, 268.
- Allers et Bondi.* — Bioch. Zeit., 1907, VI, 366.
- Pribram.* — Ber. Sächs. Ges. Wiss., 1871, 23-279.
- Dienes.* — Bioch. Zeitsch., 1919, 95-131.
- Kramer, Howland.* — Journal of biol. chem., 1920, t. XLIII, 35.
- De Waard (D. J.).* — Biol. Zeitsch., 1919, 97-136.
- Howland, Marriott (J.).* — Bioch. chem., 1917, 32-233.
- Lyman.* — Journal of biol. Chemistry, t. XXIX, p. 169.
- Mazzocco.* — Comptes rendus de la Soc. de Biologie, année 1921, t. XXXV, p. 689.
- Hirth.* — Comptes rendus de la Soc. de Biologie, année 1923, t. LXXXVIII, p. 460.
- Marthe (R. Jones) et Lillian (L.). Nye.* — Journ. Biol. Chem., 1921, t. XLVII, p. 321.
- Howland, Marriott.* — Quart. Jour. Med., 1917-1918, t. II, p. 289.
- Meysenbüg (L.) et Cann (G. F.).* — Jour. of biol. Chem., 1921, t. XLVII, p. 541.

